

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

**Studijní program: Zoologie**



**Mgr. Tomáš Protiva**

Variabilita tvaru krunýře u vybraných zástupců čeledi

Geoemydidae

Shell shape variability in selected members of family

Geoemydidae

**Disertační práce**

Školitel: RNDr. Ivan Reháček, CSc.

Konzultant: Doc. RNDr. Daniel Frynta, Ph.D.

Praha, 2016

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 01. 08. 2016

Podpis

## Poděkování

Rád bych na tomto místě poděkoval svému školiteli Ivanu Rehákoví a konzultantovi Danielu Fryntovi za trpělivost, kterou se mnou měli po celou dlouhou dobu mého studia. Doktora Reháka jsem vyhledal již v druhém ročníku s cílem zahájit výzkum na ještěrech či hadech. Pan doktor mne místo toho nasměroval na skupinu zvířat, která mne do té doby spíše mījela a nijak zvláště nezajímala, želvy. Seděli jsme na chodbě univerzity a pan doktor mi objasnil, jakou příležitost mám při výzkumu želv, které se dostaly do Zoo Praha z „hongkongského záchytu“ a o jejichž biologii se nevědělo takřka nic. Takto začal můj výzkum druhu *Orlitia borneensis*, který mne přivedl do nádherného světa želv, ve kterém jsem uvízl až dosud a pravděpodobně ho nikdy neopustím. Také mi tímto umožnil přístup do Zoo Praha, kde se mne ujal kurátor plazů Petr Velenský a poskytl mi podporu v mém snažení.

Další nepostradatelnou osobou v mém výzkumném snažení je náš guru besar Daniel Frynta, který se stal mým konzultantem, a možná toho i někdy litoval. Určitě jsem mu nic neusnadňoval a stíhal jsem ho s jednou prosbou o radu či pomoc za druhou. Za tu řádku let jsme spolu toho také hodně zažili, jako například dva měsíce strávené v Indonésii, kde jsme unikali žralokům, snažili se přežít na trajektu smrti i spali v nejhorším hotelu na Ternate plném krys. Ale zároveň jsme poznali nádherná místa, zajímavá zvířata a nasbírali data, která jsou i základem některých přiložených publikací.

Nemenší dík patří mé přítelkyni Martě, nejlepší kamarádce Martině, celé mé rodině a všem kamarádům. Bez jejich podpory a povzbuzování bych se nikdy takto daleko nedostal.

Rád bych poděkoval i všem svým spoluautorům, kteří jsou také často mými kamarády a soupevníky na strastiplné cestě za poznáním.

## Abstrakt

Želvy vždy fascinovaly člověka svou morfologií, unikátní embryogenezí a později i neujasněnou pozicí ve fylogenezi. Tato skupina existuje již 200 milionů let, od prvních zástupců rodů *Odontochelys* a *Proganochelys*, ale v současnosti je většina druhů ohrožena především neřízeným lovem. Kritická situace je zejména v Asii, kde obrovskou poptávkou po želvích produktech vytvářejí čínské trhy. Řada druhů je na pokraji vyhubení a záchranné chovy v zajetí jsou nutností. K plánování záchranného programu je ale zásadní znalost správného taxonomického zařazení a geografického původu. Variabilita tvaru karapaxu a plastronu, studované pomocí metody geometrické morfometrie a podpořené genetickou analýzou, představují vhodné nástroje k získávání těchto poznatků. V této práci jsme se soustředili především na ověření aplikovatelnosti metody geometrické morfometrie na vybrané zástupce čeledi Geoemydidae, jejichž centrum rozšíření se nachází v Asii a jsou tak touto tzv. „želví krizí“ nejvíce ohroženi. U želvy *Morenia petersi* jsme se zaměřili na neobvykle častý výskyt vmezeřeného vertebrálního štítu na karapaxu. Ten nijak neovlivňuje tvar karapaxu ani plastronu a nenalezli jsme rozdíl ani v celkovém tvaru mezi jedinci s vmezeřeným štítkem a normálními jedinci s pěti vertebrálními štítky. Pravděpodobné zafixování nadbytečného štítu v evolučním procesu, obdobně jako u dalšího druhu této čeledi *Notochelys platynota* bez vlivu na celkový tvar, ukazuje schopnost změny morfologie krunýře. Velmi ohrožený druh *Mauremys annamensis* se ukázal být dimorfní, jak v mitochondriálním genu, tak ve tvaru plastronu. Tento rozdíl by měl být brán v potaz při záchranných chovech a repatriaci. U druhu *Orlitia borneensis*, který je díky své velikosti vyhledáván lovci, a počty želv tohoto druhu v přírodě rapidně ubývají, jsme zjistili uniformitu pravděpodobně v celém rozsahu areálu jak v genetické analýze, tak i pro tvar karapaxu a plastronu. Nic tedy nebrání zapojení všech jedinců v chovech v zajetí do záchranných programů. U taxonomicky komplikovaných druhů z rodu *Cuora*, jsme na základě tvaru plastronu a karapaxu, zbarvení, geografického rozšíření a genetiky byli schopni ověřit validitu druhu *C. cyclornata* a popsat nové poddruhy *C. cyclornata annamitica*, *C. trifasciata luteocephala* a *C. aurocapitata dabieshani*. U druhu *Cuora amboinensis* jsme prokázali, že determinace poddruhů *C. a. kamaroma* a *C. a. couro* je možná již u nedospělých zvířat na základě tvaru karapaxu a plastronu.

## Abstract

Turtles always fascinated men primarily by morphology, unique embryogenesis and later also by uncertain phylogenetic position. As this group exists for 200 Mya, with taxon *Odontochelys* and *Proganochelys* identified as the first ancestors, recently they are endangered by habitat destruction and hunting for meat. The worst situation is in Asia, with China as the most important consumer of turtle meat and other products. Captive breeding programs may be the only chance for lot of almost extinct species. Proper taxonomic and geographical determination is crucial for correct management of rescue programs. Shell shape variability studied by geometric morphometric method and supported by genetics is the right tool for this task. My thesis is focused on verification of the use of geometric morphometric method for selected species of family Geoemydidae. This family has centre of distribution in Asia and many of its species are endangered by so called Asian Turtle Crisis. We found unusual high occurrence of supernumerary vertebral scute in *Morenia petersi*. Shape of the carapace and plastron is not affected by presence of this extra scute. There are no significant differences between turtles with additional scute and turtles with normal five vertebral layouts. Scute pattern with supernumerary vertebral scute shows ability of change in shell morphology without any negative impact similar to other species of this family, *Notochelys platynota* and possible fixation of this novelty in the evolution process. We found differences in mitochondrial gene for endangered species *Mauremys annamensis*. This separation in two groups is also supported by the shape of the plastron. This distinction should be included in decisions concerning captive breeding and repatriation of this species. We found no significant differences in genetics and shell shape among haplotypes of *Orlitia borneensis* within whole distribution range. All individuals in captive breeding conditions could be thus included in the rescue program. We were able to verify validity of *Cuora cyclornata* based on shape of the carapace and plastron, coloration, geographical distribution and genetics. According to these characters we also described three new subspecies, *C. cyclornata annamitica*, *C. trifasciata luteocephala* a *C. aurocapitata dabieshani*. In *Cuora amboinensis* we found significant differences in shape of the carapace and plastron even in immature individuals between subspecies *C. a. kamaroma* and *C. a. couro*.

# Obsah

1. Úvod.....	1
1.1. Úvod do problematiky a cíle práce .....	1
2. Výsledky práce v kontextu současného poznání.....	3
2.1. Želvy .....	3
2.2. Krunýř .....	3
2.3. Tvarová variabilita krunýře želv .....	7
2.4. Ohrožení želv .....	9
2.5. Literatura .....	17
3. Publikace.....	35
1. <b>Protiva T</b> , Komárková M, Frynta D, Reháč I. (1) Deformity or evolution in progress? Carapace abnormality in The Indian Eyed Turtle ( <i>Morenia petersi</i> ). Submitted to <i>Integrative Zoology</i> .	
2. Somerová B, Reháč I, Velenský P, Palupčíková K, <b>Protiva T</b> , Frynta D (2015). Haplotype variation in founders of the <i>Mauremys annamensis</i> population kept in European Zoos. <i>Acta Herpetologica</i> . 10: 7-15.	
3. <b>Protiva T</b> , Velenský P, Somerová B, Frynta D, Reháč I. (2) Is shell-shape variability congruent with deep mitochondrial clades in <i>Mauremys annamensis</i> ? Submitted to Turkish Journal of Zoology.	
4. Palupčíková K, Somerová B, <b>Protiva T</b> , Reháč I, Velenský P, Hulva P, Gunalen D, Frynta D. 2012. Genetic and shell-shape analyses of <i>Orlitia borneensis</i> (Chelonia: Geoemydidae) reveal limited divergence among founders of the European zoo population. <i>Zootaxa</i> . (3280): 56-66.	
5. Blanck T, <b>Protiva T</b> , Zhou T, Li Y, Tiedemann PCR. New subspecies of <i>Cuora cyclornata</i> (Blanck, McCord & Le, 2006), <i>Cuora trifasciata</i> (Bell, 1825) and <i>Cuora aurocapitata</i> (Luo & Zong, 1988). Submitted to <i>Asian Herpetological Research</i> .	
6. <b>Protiva T</b> , Gunalen D, Bauerová A, Palupčíková K, Somerová B, Frýdlová P, Jančúchová – Lásková J, Šimková O, Frynta D, Reháč I. (3) Shell shape and genetic variability of Southeast Asian Box Turtles ( <i>Cuora amboinensis</i> ) from Borneo and Sumatra. Submitted to <i>Vertebrate Zoology</i> .	
4. Závěr .....	180

# 1. Úvod

## 1.1. Úvod do problematiky a cíle práce

Nejcharakterističtější morfologickým přizpůsobením želv je jejich krunýř. Ten je také ideálním nástrojem pro hlubší poznání této skupiny, která je stále málo prozkoumána, jak z hlediska fylogenetických vztahů, tak morfologické variability či etologie. Přitom nás želvy mohou naučit mnohé o rigidnosti tělního plánu ve fylogenezi a zároveň o překvapivé individuální variabilitě a schopnosti se přizpůsobit odlišným ekologickým podmínkám. Všechny tyto aspekty můžeme zkoumat použitím geometrické morfometrie aplikované na karapax a plastron. Díky hlubší znalosti variability tvaru krunýře na mezidruhové, vnitrodruhové, mezipohlavní i ontogenetické úrovni budeme schopni lépe pochopit procesy vývojové biologie a evoluce u této skupiny a aplikovat tyto znalosti na lepší ochranu želv v přírodě i v záchranných chovech v zajetí.

Vzhledem k zaměření mé diplomové práce na druhy *Orlitia borneensis* a *Heosemys grandis* (výzkum tohoto druhu stále probíhá a výsledky tedy nejsou zahrnuty v této práci), jsem se těmito druhy zabýval i dále v mé disertační práci a přibral ještě další druhy, také z čeledi Geoemydidae. Tato čeleď je, jak je rozvedeno níže, velmi zajímavá a zároveň většina druhů je ve větší či menší míře ohrožena. Výsledky mohou pomoci, jak v teoretické rovině, tak i praktické při ochraně těchto druhů.

Již při vypracovávání diplomové práce jsem se seznámil se studiemi zkoumajícími morfologii želv pomocí klasické i geometrické morfometrie. Zarážející byl malý počet takových prací a minimum informací o morfologické variabilitě želv a jejich krunýře či dalších morfologických struktur. Svou prací bych rád rozšířil znalosti o této problematice, vyvolal větší zájem o morfologickou variabilitu želv a pomohl tak k zlepšení ochrany mnoha ohrožených druhů.

Cíle práce:

- Zjistit vliv vmezeřeného vertebrálního štítu u druhu *Morenia petersi* na tvar karapaxu a plastronu a případné ovlivnění fitness.

- Nalézt případné hybridy v rámci druhu *Mauremys annamensis* a ověřit analýzou tvaru karapaxu a plastronu validitu rozdělení tohoto druhu na dva subklady na základě mitochondriální DNA.
- Popsat genetickou a morfologickou variabilitu druhu *Orlitia borneensis*, jakožto druhu s velkým areálem rozšíření, kde existuje podezření na možné populační rozdíly.
- Ověřit validitu druhu *Cuora cyclornata*, a prozkoumat variabilitu tvaru karapaxu a plastronu u tohoto druhu a také *C. trifasciata* a *C. aurocapitata*.
- Prokázat vhodnost metody geometrické morfometrie k rozlišení populací na vnitrodruhové úrovni u druhu *Cuora amboinensis*.



## **2. Výsledky práce v kontextu současného poznání**

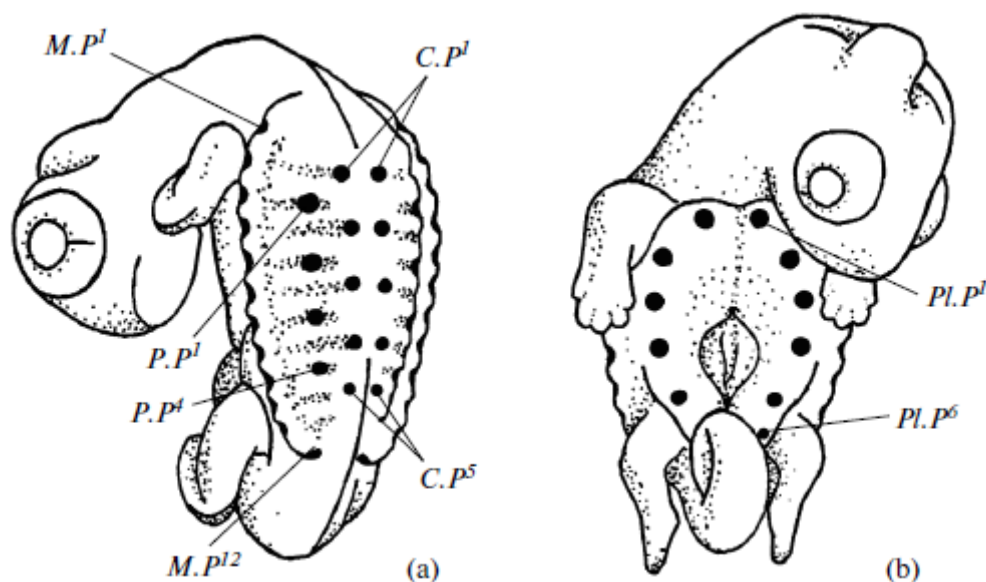
### **2.1.      *Želvy***

Želvy (Testudines) vždy fascinovaly člověka svou unikátní morfologií a zároveň nejasností svého původu. I nyní, s rychlým rozvojem genetických metod, není zařazení želv z fylogenetického hlediska vyřešené. Momentálně je prosazováno několik teorií o původu želv. První z nich umisťuje želvy jako sesterskou skupinu k diapsidům (lepidosauři a archosauři). Tato hypotéza je podpořena jak vývojovými (Werneburg & Sánchez-Villagra 2009) tak morfologickými daty (Gauthier et al. 1988a,b; Laurin and Reisz 1995; Lee 1995, 2001; Lyson et al. 2010). Další teorie, která je založena na datech morfologických (Rieppel & deBraga 1996; deBraga & Rieppel 1997; Hill 2005) a také datech o microRNA (Lyson et al. 2012), řadí želvy jako sesterskou skupinu lepidosaurů. Mitochondriální a jaderné geny je naopak kladou jako sesterskou skupinu k archosaurům (Hugall et al. 2007; Shen et al. 2011; Crawford et al. 2012; Chiari et al. 2012). Další možností je původ této skupiny odštěpením z plazů ještě před tím než vznikla korunní diapsida, která již postrádá cleithrum přítomné u želv (Lyson et al. 2010; Lyson et al. 2013).

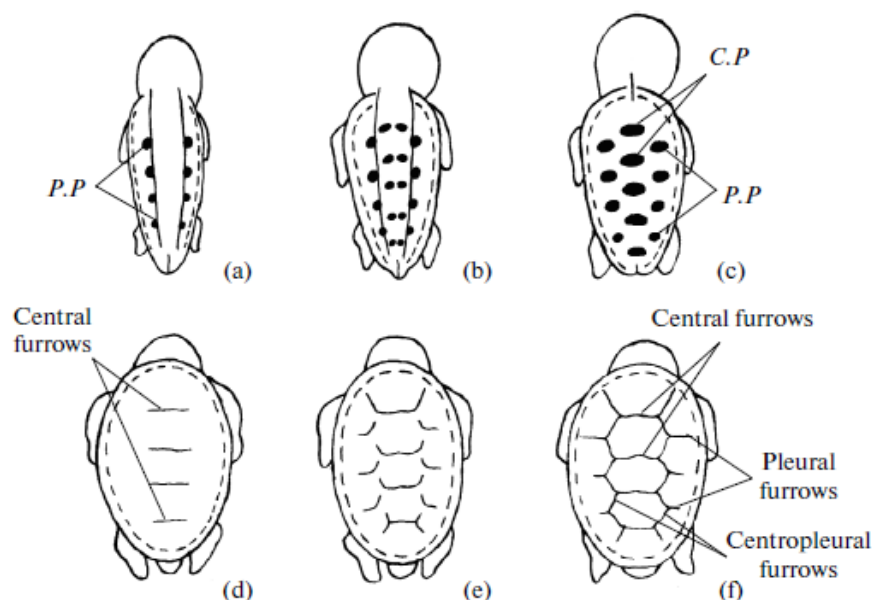
### **2.2.      *Krunýř***

Krunýř želv představuje jedinečnou modifikaci původního tělního plánu tetrapodů, vzniklou přeměnou a uzpůsobením přibližně 50 kostí (Lyson et al. 2013). Vývoj krunýře začíná, jakmile se objeví tzv. carapacial ridge, což je shluk buněk na hřbetní straně těla, který je unikátní pouze pro želvy. Jako první se objevují základy (plakody) pro scuta marginalia, které se zformují podél carapacial ridge. Potom následují plakody pro scuta costalia, scuta vertebralia a scutum nuchale. Plakody pro scuta vertebralia a scutum nuchale se zakládají jako párové a poté se ve vývoji spojují a vytvářejí tak nepárové štítky. Plakody pro štítky plastronu se tvoří na okrajích až v pozdější části vývoje, když se karapax již formuje (Cherepanov 2002, 2005, 2006, 2014; Moustakas–Verho et al. 2014; Moustakas-Verho & Cherepanov 2015) (Obr. 1 a 2). Později se vytvářejí rýhy, které definují okraje štítků. Tvorba těchto rýh začíná nejprve uprostřed mezi scuta vertebralia a postupuje od středu ven ke štítkům scuta

costalia. Naopak rýhy mezi scuta marginalia se tvoří z okraje ke středu (Cherepanov 2002, 2005, 2006, 2014, 2015) (Obr. 2). Jednotlivé plakody jsou umístěny podle somitů, tam kde se překrývá exprese genů Shh a Bmp2 (Cherepanov 2002, 2005, 2006, 2014; Moustakas-Verho et al. 2014). U většiny druhů je pak výsledkem standartní rozložení štítků na karapaxu. Uprostřed je pět scuta vertebralia, po stranách čtyři párové scuta costalia a po okrajích je obvykle 12 párů scuta marginalia (Obr. 2).



Obrázek 1: Uspořádání plakod u embrya želvy: (a) zobrazení vývoje karapaxu ve fázi 15; (b) zobrazení vývoje plastronu ve fázi 16. Zkratky: (Pl.P) Plastrální plakody; (M.P) plakody pro scuta marginalia; (P.P) plakody pro scuta costalia; (C.P) plakody pro scuta vertebralia; (1–12) číslo plakody. Převzato z Cherepanov (2014).



Obrázek 2. Schéma vývoje vertebrálních a kostálních štítků karapaxu u embrya *Testudo graeca*: (a) fáze 13–14, (b) fáze 15, (c) fáze 16, (d–f) fáze 17; a, b, c: vývoj a umístění plakod. d, e, f: vývoj rýh mezi štítky. Zkratky: (P.P) plakody pro scuta costalia; (C.P) plakody pro scuta vertebralia; Převzato z Cherepanov (2014).

Výjimku z tohoto rozložení štítků můžeme pozorovat jen u několika druhů želv, kde došlo k zafixování symetrických vmezeřených štítků. Dané anomálie mají genetickou povahu a jsou dědičné (Zangerl & Johnson 1957). Ve většině případů se jedná o štítky scuta vertebralia či scuta costalia (Cherepanov 2015). Tento stav nacházíme pouze u několika druhů mořských želv (*Caretta caretta*, *Lepidochelys olivacea*, *Lepidochelys kempii*) a jednoho sladkovodního druhu (*Notochelys platynota*) (Bull & Vogt 1979; Mast & Carr 1989; Brophy & Ernst 2004), ale je pravděpodobné, že se vyskytuje i u dalších druhů. V knize Bonin et al. (2006) je na jedné fotografii jedinec *Chelodina parkeri* se šesti scuta vertebralia.

Asymetrické deformace karapaxu a plastronu se vyskytují výrazně častěji. Mohou se projevovat ve formě zmnožení štítků či naopak může některý štítek chybět. Tato poškození můžeme pozorovat u většiny druhů želv (Zangerl & Johnson 1957; Zangerl 1969; Pritchard 1979; Bujes & Verrasto 2007; Cordero-Rivera et al. 2008;

Gilbert & Epel 2009; Ergene et al. 2011; Velo-Anton et al. 2011; Telemeco et al. 2013; Sim et al. 2014a, 2014b; Loehr 2016). Většinou postihují zadní část karapaxu (Zangerl & Johnson 1957; Bujes & Verrasto 2007; Cordero-Rivera et al. 2008) a výsledkem může být rovněž snížené fitness (Gilbert & Epel 2009; Telemeco et al. 2013; Sim et al. 2014a). Mohou negativně ovlivňovat úspěšné vylíhnutí mláďete z vejce (Sim et al. 2014a). Nejčastějšími příčinami deformací jsou vnější faktory během inkubace, jako jsou extrémní teplota (Lynn & Ullrich 1950; Packard & Packard 1988; Velo-Anton et al. 2011; Telemeco et al. 2013; Loehr 2016), přesušení snůšky (Lynn & Ullrich 1950, Loehr 2016), znečištění (Bujes & Verrasto 2007) nebo dokonce přesun vajec za účelem ochrany, například u mořských želv (Sonmez et al. 2011).

Deformaci karapaxu ve formě jednoho vertebrálního vmezeřeného štítku jsme pozorovali u druhu *Morenia petersi* (Protiva et al. submit. 1). Zajímavým faktem bylo, že počet jedinců s tímto vmezeřeným štítkem byl nezvykle vysoký (polovina studovaných zvířat) a poškození bylo vždy na stejném místě. Sledovali jsme, zda tato deformace má vliv na tvar celého karapaxu a plastronu. Nicméně, přítomnost vmezeřeného štítku neměla žádný vliv na tvar a nebyl nalezen ani signifikantní rozdíl mezi postiženými želvami a jedinci s normálním uspořádáním pěti vertebrálních štítků. Ovlivnění fitness se tedy zdá být nepravděpodobné. Zarážející je podobnost s druhem *Notochelys platynota*, který má také šest vertebrálních štítků a je rovněž z čeledi Geoemydidae. Naopak tomuto druhu fylogeneticky, ekologicky, morfologicky i geograficky blízký druh *Leucocephalon yuwonoi* má standartní rozložení s pěti vertebrálními štítky (Mccord et al. 2000; Brophy & Ernst 2004; Spinks 2004; Praschag et al. 2006; Riyanto 2006). Není známé jak rozšířená je tato forma druhu *Morenia petersi* s vmezeřeným štítkem a zda je geograficky lokalizovaná. Hossain et al. (2014) studovali morfologii 200 želv tohoto druhu a žádný vmezeřený štítek či jiné deformity neuvádějí. V souhrnném článku zabývajícím se také tímto druhem (Das & Sengupta 2010), neuvádějí vmezeřené štítky a přitom na jedné fotografii je juvenil přesně se shodnou deformací, kterou jsem v této práci popsal. V další publikaci hlavního autora předchozí práce (Das 2010) týkající se *Morenia ocellata*, jediného dalšího zástupce rodu *Morenia*, nejsou diskutovány žádné deformace karapaxu či plastronu a přitom na fotografii v publikaci je opět juvenil s vmezeřeným štítkem. Přítomnost rovnoměrného rozložení želv s vmezeřeným štítkem a s normálním vzorem štítků naznačuje, že

alespoň podle námi studovaného vzorku želv, formy nejsou nijak geograficky izolovány. Vývojový mechanismus, který by byl odpovědný za výskyt symetrického vmezeřeného štítu u určitých taxonů, které nejsou fylogeneticky blízké, bohužel není dosud znám. Můžeme jen spekulovat, zda přítomnost tohoto štítu je prvním krokem v evoluci nového druhu (Protiva et al. submit. 1).

### **2.3. Tvarová variabilita krunýře želv**

Karapax a plastron želv jsou pro svou fylogenetickou stálost vzoru štítů a výslednou homologii ideální pro morfometrická srovnání. Klasická morfometrie, která je aplikována měřením vzdáleností na kostech, měkkých částech těla či v tomto případě krunýři, se ukazuje být nedostatečně přesná. V současné době je často nahrazena geometrickou morfometrií, která pracuje s celým tvarem zkoumané morfologické struktury a nikoliv pouze se vzdálenostmi. Geometrická morfometrie tak dosahuje ve srovnání s klasickou morfometrií výrazně vyšší přesnosti a je schopna odhalit výrazně menší rozdíly ve zkoumaných morfologických strukturách (Zelditch et al. 2004). Umožňuje tak zkoumání vnitrodruhové a mezidruhové variability ve tvaru krunýře, lebky a dalších morfologických struktur. Byly zjištěny rozdíly ve tvaru lebky mezi několika populacemi druhu *Macrochelys temminckii* (Murray et al. 2014) nebo ve tvaru krunýře mezi populacemi druhu *Hydromedusa tectifera* (Clavijo-Baquet et al. 2010). Metoda může být použita také k lehce aplikovatelné identifikaci jedinců (Chiari & Claude 2012).

Želvy patří mezi živočichy, kteří v časných údobích života postrádají dostatečně vyvinuté pohlavní znaky, které by byly rozeznatelné pouhým okem. Informace o pohlaví u mláďat může být získána pouze invazní cestou a to buď histologií gonád, (u *Caretta caretta*, Wyneken et al. 2007, u *Podocnemis lewyana*, Gómez-Salazarriaga et al. 2016) endoskopií (u *Erymnochelys madagascariensis*, Kuchling 2006, u *Chelydra serpentina*, Ceballos & Valenzuela 2011), či nepřímými metodami jako je morfometrie, podle hladiny hormonů (u *Podocnemis expansa*, Lance et al. 1992, u *Caretta caretta*, Gross et al. 1995, u *Chrysemys picta* a *Podocnemis expansa*, Valenzuela et al. 2004, u *Chelonia mydas*, Xia et al. 2011) nebo molekulární biologií (Litterman et al. 2014). Jakékoli snahy o ochranu či záchranu ohrožených druhů naráží na problém možného určení pohlaví u mláďat ideálně neinvazním způsobem. Geometrická morfometrie je

pro tento účel ideální metodou, která je schopna rozpoznat velmi malé rozdíly ve tvaru karapaxu a plastronu u mláďat již v raném věku. Metoda je neinvazní a snadno aplikovatelná i v terénních podmínkách (Gómez-Saldarriaga et al. 2016). Tato metodologie již byla experimentálně ověřena u druhů *Chrysemys picta*, *Podocnemis expansa* (Valenzuela et al 2004; Lubiana & Ferreira 2009), kde byl zkoumán tvar karapaxu u čerstvě vylíhlých mláďat a nalezen signifikantní rozdíl. Tvar plastronu byl u druhu *P. expansa* dimorfní až od pěti měsíců věku a nejvyšší diskriminace byla zaznamenána až ve věku 25 měsíců (Ceballos et al. 2013). U druhu *Podocnemis lewyana* byl nalezen výraznější rozdíl ve tvaru plastronu (Gómez-Saldarriaga et al. 2016) a mláďata druhu *Chelydra serpentina* byla dimorfní pouze ve tvaru plastronu (Ceballos & Valenzuela 2011). Tvar karapaxu a plastronu byl také závislý na délce inkubace u druhu *Caretta caretta* (Ferreira-Júnior et al. 2011).

Prokázána byla také dědičnost tvaru plastronu u *Trachemys scripta* (Myers et al. 2006) a vliv tvaru plastronu na rychlost plavání mláďat. Mláďata s kratším a širším plastronem plavala rychleji než ta s plastronem delším a užším. To může být velká antipredační výhoda v prvních obdobích po vylíhnutí (Myers et al. 2007).

Tvar krunýře se také mění v ontogenezi, a to mezi jedinci téhož druhu, ale i mezidruhově. Variabilita v ontogenezi tvaru byla zjištěna u dvou morfologických forem Galapážských želv rodu *Chelonoidis* (Ciari & Claude 2011) a také u želv rodu *Aldabrachelys* (*Dipsochelys*) z ostrovů Seychely a Aldabra (Gerlach 2011). Na mezidruhové úrovni se ontogenezi tvaru věnovali Angielczyk & Feldman (2013), u vybraných zástupců čeledi Emydidae. Rozdíly v ontogenezi tvaru byly signifikantní mezi všemi zkoumanými druhy. Jednotlivé druhy si byly tvarově podobnější v nízkém věku, v dospělosti byly rozdíly výraznější.

Výzkum fenotypové variability se ale neomezuje pouze na tvar krunýře, metoda geometrické morfometrie byla aplikována také na rozdíly ve tvaru lebky vzhledem k ekologickým faktorům (aquaticita x terestricita, herbivorie x karnivorie) u zástupců čeledí Emydidae a Geoemydidae. Byla prokázána souvislost mezi ekologií druhu a tvarem lebky. Vliv fylogeneze (příslušnost do jiné čeledi) byl slabší a můžeme tedy pozorovat konvergenci vývoje vzhledem k ekologickým přizpůsobením (Claude et al.

2004). Studie velmi podobného zaměření byly aplikovány také na tvarovou plasticitu krunýře se stejnými závěry (Claude et al. 2003; McLaughlin & Stayton 2016). Tvar krunýře vzhledem k ekologii druhu je pak možno použít jako vodítko k určení aquaticity či terestricity již vymřelého taxonu (Benson et al. 2011). Vliv ekologie, ale i fylogeneze byl zaznamenán i u mezidruhového srovnání tvaru plastronu v čeledi Emydidae. Velký vliv měla přítomnost pohyblivého švu na plastronu, který umožňuje želvě schovat hlavu a končetiny a uzavřít se částečně či zcela v krunýři (Angielczyk et al. 2010). Ekologie druhu se také promítá do tvaru ramenního pletence a to jak u suchozemských, vodních tak i mořských druhů želv (Depecker et al. 2006).

Velmi výrazně je tvar krunýře a dalších částí želvího těla provázán s pohybem. Želvy jsou ekologicky velmi rozmanité a přizpůsobení se životu ve vodě či na souši se promítá do morfologie celého těla. Tvar krunýře má vliv na hydrodynamiku a sílu krunýře podle ekologie druhu (Rivera & Stayton 2011; Stayton 2011) a tvar humeru výrazně koreluje s mírou aquaticity druhu (Depecker et al. 2006). Tvar krčních obratlů je ovlivněn způsobem zatahování hlavy (Werneburg et al. 2015) a pohyb krku u jednotlivých taxonů se promítá i do tvaru lebky (Werneburg 2015). Schopnost želvy otočit se zpět na nohy je také ovlivněn tvarem karapaxu, ale zdá se, že zde hraje roli i preferování tvaru, který je nevýhodný pro otáčení ale skýtá výhodu samicím v možnosti větší snůšky nebo samcům v lepší stabilitě při páření (Golubović et al. 2015). Ekologie také může ovlivňovat symetrii krunýře. U vodních druhů, kde jsou vyšší nároky na hydrodynamičnost tvaru, byla zaznamenána vyšší symetrie než u druhů terestrických (Rivera & Claude 2008).

## **2.4. Ohrožení želv**

Mnoho druhů želv je ohroženo ničením životního prostředí a také lovem na maso či pro tradiční čínskou medicínu. Asijské druhy želv především z čeledi Geoemydidae jsou bohužel postiženy nejvíce vzhledem k blízkosti Číny a obrovské poptávce tamních trhů. Problém dosáhl takových rozměrů, že je již nazýván „asijskou želví krizí“ (Cheung & Dudgeon 2006; Zhou & Jiang 2008; Chen et al. 2009).

Zasaženy jsou i nejběžnější a nejrozšířenější druhy jako je například druh *Cuora amboinensis*. Druh stále není klasifikován jako ohrožený a legální exporty (většinou na

čínské trhy) jsou v desetitisícových kvótách, ale i tyto jsou překračovány a želvy jsou často pašovány. Abundance na mnoha lokalitách klesá a na některých místech je již tento druh vyhuben (Schoppe 2008, 2009; Schoppe & Das 2011). Ještě více se lovci zaměřují na velké (délka karapaxu až 80cm, Ernst & Barbour 1989) říční druhy rodů *Batagur*, *Kachuga* a *Orlitia* (Samedi & Iskandar 2000; TRAFFIC 2001).

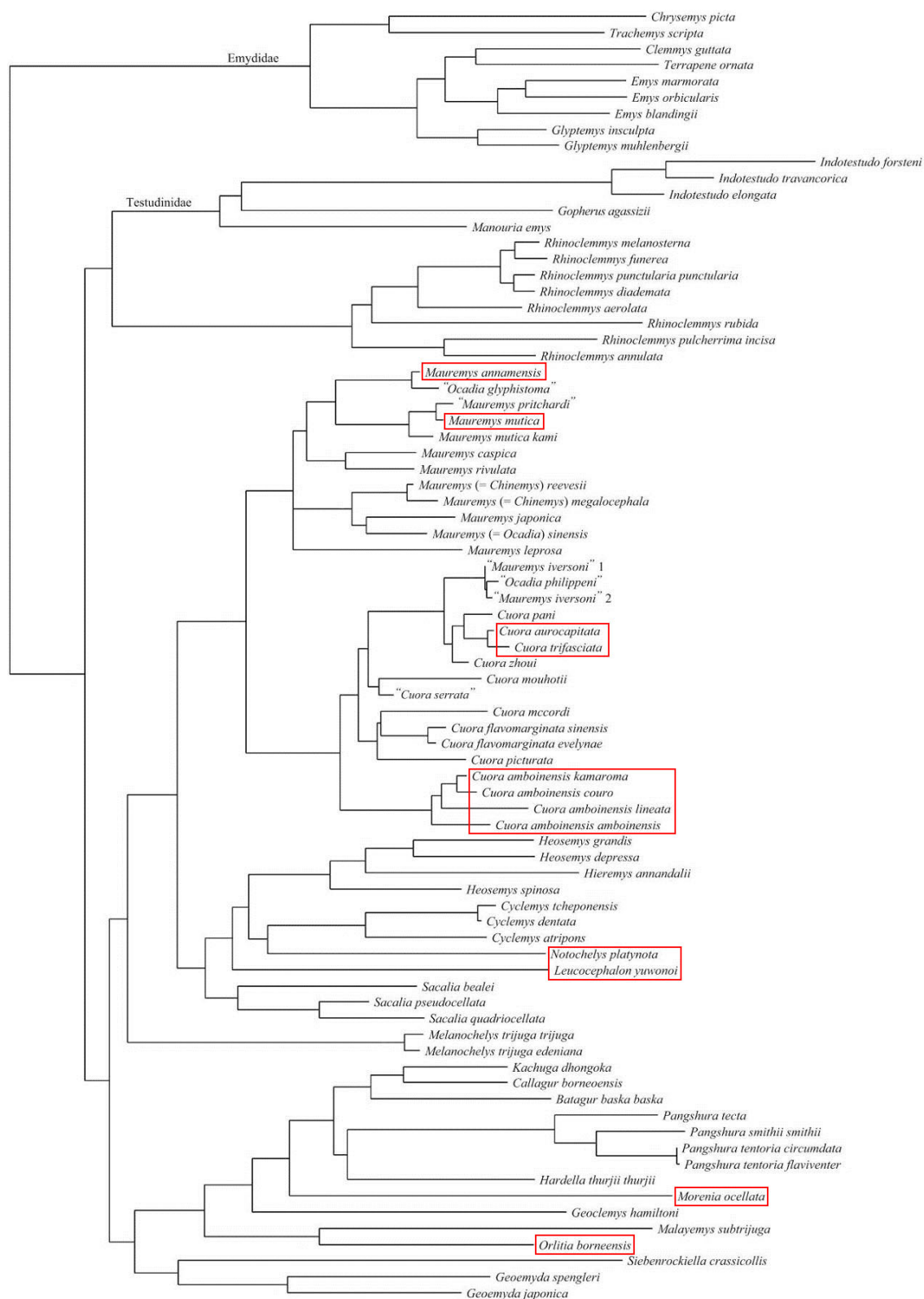
Výrazným ohrožením je tento neřízený lov pro druhy s omezenou a fragmentovanou geografickou distribucí jako je druh *Mauremys annamensis*. Ten se vyskytuje pouze v centrálním Vietnamu a byl dokonce prohlášen za v přírodě vyhubený, neboť od roku 1941 nebyl v přírodě zaznamenán. Až v roce 2006 byl jeden zástupce znovu objeven. Podobný osud měla také *Siebenrockiella leytenis* z Filipín, která byla považována za vyhynulou a pak byla opět nalezena. Také byla původně řazena na základě morfologie chybně do rodu *Heosemys* (Diesmos et al. 2005). Naštěstí v chovech v zajetí v záchranném centru v Národním parku Cuc Phuong ve Vietnamu a v evropských a amerických chovech je stále *M. annamensis* zastoupena a odchovy jsou pravidelné (Le et al. 2004; Parham et al. 2006; McCormack et al. 2014). U tohoto druhu je velké riziko hybridizace především s fylogeneticky nejbližším *M. mutica* (Barth et al. 2004; Feldman & Parham 2004; Spinks et al. 2004; Zhou et al. 2015), s kterým se částečně překrývá v geografickém rozšíření (Iverson 1992). Kříženci *M. annamensis* ale byli zaznamenáni i s druhy *M. sinensis*, *M. nigricans*, *Cuora amboinensis* a *C. trifasciata* a to v přírodě i v zajetí (Parham et al. 2001; Shi & Parham 2001; Fong & Chen 2010). Navíc již v práci Fong et al. (2007) bylo zjištěno rozdělení u druhu *M. annamensis* na dva klady podle mitochondriálního ND4 genu. Tato struktura ale nebyla nalezena u jaderného R35 genu, kde byli všichni jedinci podobní. Populace druhu *M. mutica* z Hainanu se výrazně lišila od pevninské *M. mutica* z východní Číny a tvořila podle mitochondriálních genů sesterský klad k *M. annamensis*. V jaderných genech naopak byla *M. mutica* z Hainanu výrazně odlišná od pevninské čínské *M. mutica* i od *M. annamensis*. To ukazuje na pravděpodobný hybridní původ *M. mutica* z Hainanu (Fong et al. 2007). V naší práci jsme se soustředili na populaci *M. annamensis* v evropských zoologických zahradách a u soukromých chovatelů. Naše výsledky se shodují s výsledky Fong et al. (2007). Potvrdili jsme existenci dvou distinktních haplotypových skupin v mitochondriálním ND4 genu a nepřítomnost tohoto rozdělení podle jaderného R35 genu. Nenalezli jsme žádné hybridy druhu *M. annamensis*, kteří



fenotypově odpovídají tomuto druhu. Naopak dvě želvy fenotypově odpovídající *M. mutica* byly hybridy s *M. annamensis*. Želvy s fenotypem *M. annamensis* jsou tedy pravděpodobně nehybridního původu (Somerová et al. 2015). To je velmi příhodné vzhledem ke snahám o repatriaci jedinců odchovaných v zajetí zpět do oblasti výskytu. Problém ale může způsobovat nalezený rozdíl v mitochondriálním genu. Skupin podle mitochondriálního genu může být i více vzhledem ke studii Hu et al. (2013), kde zjistili, že druh *M. guangxiensis* je hybrid s *M. annamensis* a tento haplotyp je dalším subkladem podle mitochondriálního genu. Důležitost tohoto rozdělení jsme testovali v další práci Protiva et al. (submit. 2), kde jsme sledovali rozdíly ve tvaru karapaxu a plastronu mezi těmito dvěma mitochondriálními haplotypovými skupinami. Analýzu tvaru jsme provedli metodou geometrické morfometrie na 42 želvách známé příslušnosti k subkladu I nebo II. Nalezli jsme signifikantní rozdíl ve tvaru plastronu mezi těmito skupinami. Neexistence signifikantního rozdílu ve tvaru karapaxu lze přičítat větší variabilitě ve tvaru této části krunýře způsobené vnějšími faktory při růstu želvy. Tyto faktory (teplota, vlhkost, potrava a výsledná rychlost růstu) se negativně projevují především při chovu v zajetí (Wiesner & Iben 2003; Heinrich & Heinrich 2016). Některá studovaná zvířata vyrůstala částečně či zcela v zajetí (Protiva et al. submit. 2). Podpora rozdělení jedinců druhu *M. annamensis*, jak genetickými, tak morfometrickými daty je dostatečná a k tomuto výsledku by se pokud možno mělo přihlížet v záchranných chovech v zajetí i při repatriaci. Můžeme předpokládat, že druh *M. annamensis* pochází z několika oddělených populací a nemůžeme vyloučit ani hybridizaci v minulosti druhu (Protiva et al. submit. 2).

Velkým problémem je, že není dořešena taxonomie želv a stále jsou popisovány nové druhy rozdělením druhů existujících. Kritický stav je především u čeledi Geoemydidae. Ta je jednou z největších a nejrozmanitějších čeledí želv. Centrum geografického rozšíření je v Asii, ale některé druhy rodu *Mauremys* (*M. caspica*, *M. leprosa*, *M. rivulata*) zasahují až do Evropy a celý rod *Rhinoclemmys* je rozšířen ve střední a jižní Americe (Iverson 1992; Le & McCord 2008). Taxonomie čeledi je stále neujasněná a s rozvojem především genetických metod došlo k množství objevů vedoucích k taxonomickým změnám (Spinks et al. 2004; Stuart & Parham 2004; Diesmos et al. 2005; Spinks & Shaffer 2006; Le et al. 2007; Shi et al. 2008, Praschag et al. 2006, 2007, 2009; Fritz et al. 2008; Le & McCord 2008; Tiedemann et al. 2014) i

popisům nových druhů (Blanck et al. 2006; Praschag et al. 2007, 2009; Spinks et al. 2012; Ihlow et al. 2016). Tyto druhy mohou být zdánlivě hojné, ale rozdělením na dva či více taxonů se můžeme ocitnout v situaci, kdy jeden takto nově ustavený druh či poddruh může obývat pouze omezený areál a početnost druhu může být velmi nízká. Výsledkem může být další taxon na pokraji vyhynutí. Jen v čeledi Geoemydidae bylo několik takových příkladů v nedávné době. Došlo k popisu nového poddruhu druhu *Batagur affinis*, který je nyní jedním z nejohroženějších druhů želv světa (Praschag et al. 2009). Dalším případem je rozdělení druhu *Heosemys spinosa* na dva taxony (Spinks et al. 2012) nebo objevení dalšího druhu rodu *Malayemys* kromě již známých *M. subtrijuga* a *M. macrocephala* (Ihlow et al. 2016). Nejuclenější pohled na taxonomii čeledi představili Spinks et al. (2004) (Obr. 3).



Obrázek 3: Rekonstrukce fylogenetických vztahů čeledi Geoemydidae založené na mitochondriální DNA. Hybridní druhy jsou v uvozovkách. Převzato z práce Spinks et al. (2004) a upraveno. Barevně jsou označeny druhy diskutované v této disertaci.

Situace je nebezpečná především u druhů, kde bychom mohli očekávat skrytou druhovou či poddruhovou variabilitu jako je druh *Orlitia borneensis*. Tento druh má rozsáhlé geografické rozšíření obsahující ostrovy Sumatra a Borneo v Indonésii a také severní část Malajského poloostrova (Iverson 1992). Vzhledem ke své velké velikosti (až 80cm) je také intenzivně loven pro maso, jak již bylo uvedeno výše (Samedi & Iskandar 2000; TRAFFIC 2001). Pro ochranu tohoto druhu jsou důležité také záchranné chovy v zajetí a znalost genetické a morfologické variability je pro úspěšný záchranný program zásadní. Může se tím zabránit případnému mísení odlišných taxonů a možné zacílení ochrannářských snah na určitou populaci. Z těchto důvodů jsme přistoupili k odběru genetických vzorků a pořízení morfometrických dat od jedinců druhu *O. borneensis* v evropských zoologických zahradách (Palupčíková et al. 2012). V těchto institucích jsou téměř výhradně zvířata, konfiskovaná v roce 2001 v Hongkongu, a jsou tedy bez lokálních údajů (Ades & Crow 2002; Hiddinga 2002; Hudson & Buhlmann 2002; Rehák 2004a). Velká část želv je umístěna také v Zoologické zahradě Praha, kde je vedena plemenná kniha (Rehák 2004b). Při expedici v Indonésii jsme odebrali data také od dvou želv ze Sumatry a jedné z Bornea. Následně jsme provedli analýzu mitochondriálního *b* genu a jaderného R35 genu. Genetická variabilita mezi vzorky byla velmi nízká. Analýza tvaru karapaxu a plastronu taktéž neobjevila rozdíly mezi jednotlivými haplotypy. I přes nejistotu ohledně populace na Malajském poloostrově, odkud nemáme žádné vzorky s lokalitou, můžeme předpokládat, že druh *O. borneensis* je uniformní v celém geografickém rozšíření a není nutné se zabývat původem želv pro akce v rámci chovu v zajetí a další ochrannářské postupy (Palupčíková et al. 2012). Mezi želvami zabavenými v „hongkongském konfiskátu“ byly i druhy *Heosemys grandis* a *H. annandali*, které se vyskytují pouze na Malajském poloostrově a v dalších oblastech na pevnině (Iverson 1992). Můžeme tedy předpokládat, že mezi želvami z konfiskátu byli i někteří jedinci *O. borneensis* s lokalitou původu z Malajského poloostrova. Chybějící rozdíly mezi jednotlivými populacemi můžeme vysvětlit možnou velkou mobilitou zástupců tohoto druhu a geomorfologickou situací v době ledové, kdy Borneo, Sumatra a Malajský poloostrov byly propojeny systémem řek (Voris 2000; Palupčíková et al. 2012).

Komplikovaná je také taxonomie rodu *Cuora*. Tento velmi početný rod v současné době zahrnuje 13 druhů a 6 – 7 poddruhů (TTWG 2014). Velmi nejistá je

situace kolem druhu *Cuora trifasciata*. Blanck et al. (2006) od tohoto druhu oddělili druh *C. cyclornata* s tím, že zároveň podpořili existenci dvou poddruhů a to *C. c. cyclornata* a *C. c. meieri*. Zároveň u druhu *C. trifasciata* předpokládají existenci dvou kladů A a B. Validita druhu *C. cyclornata* byla opakovaně napadena (Artner 2007, 2008; Fritz & Havas 2007; Spinks et al. 2007, 2009, 2012) a poté nedávno potvrzena analýzou mikrosatelitů a mitochondriální DNA týmy Tiedemann et al. (2014) a Li et al. (2014a, 2014b). U dalších morfologicky si blízkých druhů *C. aurocapitata* a *C. pani* byla zpochybněna jejich validita díky malým morfologickým rozdílům a navržena možnost hybridního původu (Artner 2004; Parham et al. 2004; Spinks et al. 2004; Blanck & Tang 2005). Vše osvětlila práce Tiedemann et al. (2014), která potvrdila existenci dvou kladů *C. trifasciata* a dokonce tři separátní klady *C. cyclornata*. Potvrdila také validitu *C. aurocapitata* obsahujícího dva separátní klady. Tyto výsledky jsme doplnili o srovnání tvaru karapaxu a plastronu metodou geometrické morfometrie, vyhodnocení rozdílů ve zbarvení a geografickou izolaci jednotlivých taxonů. Geometrická morfometrie ukázala signifikantní rozdíly pro tvar karapaxu i plastronu u všech druhů a poddruhů ve studii. Kongruence těchto dat nám umožnila popsat nové poddruhy *C. cyclornata annamitica*, *C. trifasciata luteocephala* a *C. aurocapitata dabieshani*. Vzhledem ke vzácnosti těchto druhů a riziku jejich vyhynutí je nutné výsledky uplatnit v záchranných chovech a snažit se držet jednotlivé poddruhy odděleně (Blanck et al. submit.).

Dalším problematickým druhem, vzhledem k nejasné taxonomii, je *C. amboinensis*. I přesto, že je tento druh nejběžnějším a nejméně ohroženým z celého rodu *Cuora*, jeho počty v přírodě na mnoha místech klesají a na některých lokalitách je již dokonce vyhuben (Ives et al. 2008; Schoppe 2008, 2009). V současnosti se rozeznávají čtyři poddruhy na základě morfologie a zbarvení (Rhodin et al. 2010). Želvy obývající Sumatru a Jávu patří do poddruhu *C. a. couro* (Schweigger, 1812). Poddruh *C. a. kamaroma* (Rummler and Fritz, 1991) se vyskytuje na Borneu, Malajském poloostrově, v Kambodži, Laosu, Thajsku a Vietnamu. Nejmenší oblast výskytu má poddruh *C. a. lineata* (McCord and Philippen, 1998) který obývá pouze Myanmar. Ve zbylém areálu druhu, který zahrnuje Filipíny, Celebes, Moluky a Timor žije poddruh *C. a. amboinensis* (Riche in Daudin, 1801) (Rummler & Fritz 1991; Schoppe & Das 2011). Zástupci rodu *Cuora* také často hybridizují s jinými druhy, i

z jiných rodů (Wink et al. 2001; Stuart & Parham 2004) a druh *Cuora amboinensis* není výjimkou (Fritz & Mendau 2002; Galgon & Fritz 2002). Ostatně hybridizace je v rámci čeledi Geoemydidae poměrně častá a kromě druhu *C. amboinensis* se zapojují i další druhy (Stemmler 1973; Fritz 1995; Otani 1995; Fritz & Wischuf 1997). Někteří hybridi byli popsáni jako nové druhy a teprve později byl objeven jejich hybridní původ (Parham et al. 2001; Wink et al. 2001; Spinks et al. 2004; Stuart & Parham 2004; Stuart & Parham 2006; Shi et al. 2008). Hybridizace byla zaznamenána v zajetí i u fylogeneticky výrazně vzdálených druhů (Otani 1995; Schilde et al. 2004; Buskirk et al. 2005).

V naší práci (Protiva et al. submit. 3) jsme se zabývali především rozdíly mezi populací druhu *C. amboinensis* na ostrovech Borneo a Sumatra, a to jak po stránce genetické, tak morfologické. Podle stávající taxonomie se tedy jedná o rozdíl mezi poddruhy *C. a. kamaroma* a *C. a. couro*. Geometrická morfometrie provedená na tvaru karapaxu a plastronu u studovaných nedospělých jedinců z Bornea a Sumatry odhalila signifikantní rozdíly. Analýza mitochondriálního genu rozdíl mezi těmito dvěma populacemi potvrdila. Tvarová variabilita je i mezi nedospělými jedinci dostatečná, aby byla možná správná determinace do poddruhu. Genetická analýza také potvrdila odlišnost poddruhu *C. a. lineata* a *C. a. amboinensis*. Vzorke poddruhu *amboinensis* odebrané na indonéském ostrově Seram jsou tak výrazně odlišné, že odpovídají spíše druhové úrovni. V tomto případě jsou ale potřebné další genetické a morfologické studie. Naše výsledky jsou, co se týče rozdílu mezi bornejskou a sumaterskou populací, slučitelné s výsledky Ernst et al. (2016), kteří provedli analýzu morfologie druhu v celém areálu pomocí klasické morfometrie. Na rozdíl od této studie jsme našli genetické rozdíly mezi všemi poddruhy (Protiva et al. submit. 3), což odpovídá současné taxonomii (Rummler & Fritz 1991; Rhodin et al. 2010). Ernst et al. (2016) navrhuje sloučit poddruh *lineata* s *kamaroma* a *couro* s *amboinensis*, neboť nenašli signifikantní rozdíly pro existenci poddruhů *lineata* a *couro*. Další výzkum by se měl soustředit na prohloubení znalostí o taxonomii a morfologické variabilitě v rámci celého druhu.

## 2.5. *Literatura*

Ades G, Crow P. 2002. The Asian turtle rescue operation: Temporary holding and placement at Kadoorie farm and botanic garden, Hong Kong. *Turtle and Tortoise Newsletter*. 6: 2-7.

Angielczyk KD, Feldman CR, Miller GR. 2010. Adaptive evolution of plastron shape in emydine turtles. *Evolution*. 65(2): 377-94.

Angielczyk KD, Feldman CR. 2013. Are diminutive turtles miniaturized? The ontogeny of plastron shape in emydine turtles. *Biological Journal of the Linnean Society*. 108(4): 727-755.

Artner HG. 2004. Haltung und Nachzucht von Pan's Scharnierschildkröte *Cuora pani pani* Song, 1984 und der Goldkopf-Scharnierschildkröte *Cuora pani aurocapitata* Luo & Zong, 1988. *Emys*. 11(1): 4–21.

Artner HG. 2007. Keeping and Breeding of the Chinese Three-Striped Box Turtle *Cuora trifasciata* (BELL, 1825). *Emys*. 14(4): 4-21.

Artner HG. 2008. The world's extant turtle species, Part 1. *Emys*. 15(3): 4-32.

Benson RBJ, Domokos G, Várkonyi PL, Reisz RR. 2011. Shell geometry and habitat determination in extinct and extant turtles (Reptilia: Testudinata). *Paleobiology*. 37(4): 547-562.

Blanck T, McCord WP, Le M. 2006. *On the variability of Cuora trifasciata* (Bell, 1825). Edition Chimaira (Frankfurt am Main), 152 pp.

Blanck T, Protiva T, Zhou T, Li Y, Tiedemann PCR. New subspecies of *Cuora cyclornata* (Blanck, McCord & Le, 2006), *Cuora trifasciata* (Bell, 1825) and *Cuora aurocapitata* (Luo & Zong, 1988). Submitted to *Asian Herpetological Research*.

- Blanck T, Tang M. 2005. Ein neuer Fundort von *Cuora pani* SONG, 1984 mit Diskussion über den taxonomischen Status von *Cuora pani* und *Cuora aurocapitata*. *Sacalia*. 7: 16–37.
- Bonin F, Devaux B, Dupré A. 2006. *Turtles of the World*. (Translated by P. C. H. Pritchard). Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Brophy TR, Ernst CH. 2004. Sexual dimorphism, allometry and vertebral scute morphology in *Notochelys platynota* (Gray, 1834). *Hamadryad*. 29(1): 80–88.
- Bujes CS, Verrastro L. 2007. Supernumerary epidermal shields and carapace variation in Orbigny's slider turtles, *Trachemys dorbigni* (Testudines, Emydidae). *Revista Brasileira de Zoologia, Curitiba*. 24(3): 1-10.
- Bull JJ, Vogt RC. 1979. Temperature-dependent sex determination in turtles. *Science*. 206: 1186-1188.
- Buskirk JR, Parham JF, Feldman CR. 2005. On the hybridisation between two distantly related Asian turtles (Testudines : *Sacalia* × *Mauremys* ). *Salamandra*. 41(1): 21-26.
- Ceballos CP, Hernández OE, Valenzuela N. 2013. Divergent Sex-Specific Plasticity in Long-Lived Vertebrates with Contrasting Sexual Dimorphism. *Evolutionary Biology*. 41(1): 81-98.
- Ceballos CP, Valenzuela N. 2011. The role of sex-specific plasticity in shaping sexual dimorphism in a long-lived vertebrate, the snapping turtle *Chelydra serpentina*. *Evolutionary Biology*. 38: 163-181.
- Claude J, Paradis E, Tong H, Auffray JC. 2003. A geometric morphometric assessment of the effects of environment and cladogenesis on the evolution of the turtle shell. *Biological Journal of the Linnean Society*. 79(3): 485-501.



- Claude J, Paradis E, Tong H, Auffray JC. 2004. Ecological correlates and evolutionary divergence in the skull of turtles: A geometric morphometric assessment. *Systematic Biology*. 53(6): 937-952.
- Clavijo-Baquet S, Loureiro M, Achaval F. 2010. Morphological Variation in the South American Snake-Necked Turtle *Hydromedusa tectifera* (Testudines: Chelidae). *Chelonian Conservation and Biology*. 9(2): 231-237.
- Cordero-Rivera A, Ayres C, Velo-Antón G. 2008. High prevalence of accessory scutes and anomalies in Iberian populations of *Emys orbicularis* *Revista Española de Herpetología*. 22, 5-14.
- Crawford NG, Faircloth BC, McCormack JE, Brumfield RT, Winker K, Glenn TC. 2012. More than 1000 ultraconserved elements provide evidence that turtles are the sister group of archosaurs. *Biology Letters*. 8(5): 783-786.
- Das I, Sengupta S. 2010. *Morenia petersi* Anderson 1879 – Indian eyed turtle. In: Rhodin AGJ, Pritchard PCH, van Dijk PP et al. eds. Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group. *Chelonian Research Monographs* No. 5, pp. 045.1–045.5, doi:10.3854/crm5.045.petersi.v1.2010, <http://www.iucn-tftsg.org/cbftt/>.
- Das I. 2010. *Morenia ocellata* (Duméril and Bibron 1835) – Bur mese eyed turtle. In: Rhodin AGJ, Pritchard PCH, van Dijk PP et al. eds. Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group. *Chelonian Research Monographs* No. 5, pp. 044.1–044.5, doi:10.3854/crm5.044.ocellata.v1.2010, <http://www.iucn-tftsg.org/cbftt/>.
- DeBraga M, Rieppel O. 1997. Reptile phylogeny and the affinities of turtles. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 120: 281-354.
- Depecker M, Berge C, Penin X, Renous S. 2006. Geometric morphometrics of the shoulder girdle in extant turtles (Chelonii). *Journal of Anatomy*. 208: 35-45.

- Depecker M, Renous S, Penin X, Berge C. 2006. Procrustes analysis: a tool to understand shape changes of the humerus in turtles (Chelonii). *Comptes Rendus Palevol*. 5: 509-518.
- Diesmos AC, Parham JF, Stuart BL, Brown RM. 2005. The Phylogenetic Position of the Recently Rediscovered Philippine Forest Turtle (Bataguridae : *Heosemys leytensis*). *Proceedings of the California Academy of Sciences*. 56(3): 31–41.
- Ergene S, Aymak C, Ucar AH. 2011. Carapacial scute variation in green turtle (*Chelonia mydas*) and loggerhead turtle (*Caretta caretta*) hatchlings in Alata, Mersin, Turkey. *Turkish Journal of Zoology*. 35(3): 343-356.
- Ernst CH, Laemmerzahl A, Lovich JE. 2016. A morphological review of subspecies of the Asian box turtle, *Cuora amboinensis* (Testudines, Geomydidae). *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 129(1): 144-156.
- Ferreira-Júnior PD, Treichel RL, Scaramussa TL, Scalfoni JT. 2011. Morphometric pattern in *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) (Cheloniidae) hatchlings from nests with different embryo development rates. *Brazilian Journal of Biology*. 71(1): 151-156.
- Fong JJ, Chen TH. 2010. DNA evidence for the hybridization of wild turtles in Taiwan: possible genetic pollution from trade animals. *Conservation Genetics*. 11(5): 2061-2066.
- Fong JJ, Parham JF, Shi H, Stuart BL, Carter RL. 2007. A genetic survey of heavily exploited, endangered turtles: caveats on the conservation value of trade animals. *Animal Conservation*. 10(4): 452-460.
- Fritz U, Guicking D, Auer M, Sommer RS, Wink M, Hundsdörfer AK. 2008. Diversity of the Southeast Asian leaf turtle genus *Cyclemys*: how many leaves on its tree of life? *Zoologica Scripta*. 37(4): 367-390.

- Fritz U, Havas P. 2007. Checklist of Chelonians of the World. *Vertebrate Zoology*. 57(2): 149-368.
- Fritz U, Mendau D. 2002. Ein Gattungsbastard zweier südostasiatischer Schildkröten: *Cuora amboinensis kamaroma* Rummler & Fritz, 1991  $\times$  *Mauremys annamensis* (Siebenrock, 1903). *Salamandra*. 38(3): 129-134.
- Fritz U, Wischuf T. 1997. Zur Systematik westasiatisch-südosteuropäischer Bachschildkröten (Gattung *Mauremys*). *Zoologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden*. 49: 223-260.
- Fritz U. 1995. Schildkröten-Hybriden 2. Halsberger-Schildkröten. *Herpetofauna*. 17(95): 19-34.
- Galgon F, Fritz U. 2002. Captive bred hybrids between *Chinemys reevesii* (Gray, 1831) and *Cuora amboinensis kamaroma* Rummler & Fritz, 1991. *Herpetozoa*. 15: 137-148.
- Gauthier J, Kluge AG, Rowe T. 1988a. Amniote phylogeny and the importance of fossils. *Cladistics*. 4(2): 105-209.
- Gauthier J, Kluge AG, Rowe T. 1988b. The early evolution of the Amniota. In: Benton MJ (ed.). *The Phylogeny and Classification of the Tetrapods, Vol. 1: Amphibians, Reptiles, Birds*. Clarendon Press, Oxford, UK, pp. 103-155.
- Gerlach J. 2011. Development of Distinct Morphotypes in Captive Seychelles–Aldabra Giant Tortoises. *Chelonian Conservation and Biology*. 10(1): 102-112.
- Gilbert SF, Epel D. 2009. Ecological Developmental Biology: Integrating Epigenetics, Medicine, and Evolution. *The Yale Journal of Biology and Medicine*. 82(4): 231-232.
- Golubović A, Tomović L, Ivanović A. 2015. Geometry of self righting: the case of Hermann's tortoises. *Zoologischer Anzeiger*. 254: 99-105.

Gómez-Saldarriaga C, Valenzuela N, Ceballos CP. 2016. Effects of Incubation Temperature on Sex Determination in the Endangered Magdalena River Turtle, *Podocnemis lewyana*. *Chelonian Conservation and Biology*. 15(1): 43-53.

Gross TS, Crain DA, Bjorndal KA, Bolten AB, Carthy RR. 1995. Identification of sex in hatchling loggerhead turtles (*Caretta caretta*) by analysis of steroid concentrations in chorioallantoic/amniotic fluid. *General and Comparative Endocrinology*. 99(2): 204-210.

Heinrich ML, Heinrich KK. 2016. Effect of Supplemental Heat in Captive African Leopard Tortoises (*Stigmochelys pardalis*) and Spurred Tortoises (*Centrochelys sulcata*) on Growth Rate and Carapacial Scute Pyramiding. *Journal of Exotic Pet Medicine*. 25(1): 18-25.

Hiddinga B. 2002. EAZA in action for Asian turtles. *EAZA News*. 38: 18-19.

Hill RV. 2005. Integration of morphological data sets for phylogenetic analysis of Amniota: the importance of integumentary characters and increased taxonomic sampling. *Systematic Biology*. 54(4): 530-547.

Hossain ML, Sarker SU, Sarker NJ. 2014a. Morphometry of Bengal eyed turtle *Morenia peters* (Anderson 1879). *Bangladesh Journal of Zoology*. 42(1): 57–66.

Hu Q, Huang C, Xu S, Zhang Q, Ma N, Zhong H. 2013. Primary phylogenies of *Mauremys guangxiensis* and *Mauremys iversoni* inferred from DNA sequences of mitochondrial ND4 gene and nuclear c-mos gene.(article in Chinese with an abstract in English). *Sichuan Journal of Zoology*. 32: 180-186.

Hudson R, Buhlmann K. 2002. Turtle Rescue – Turtle Survival Alliance Executive Summary. Turtle and Tortoise Newsletter. *Chelonian Research Foundation*. 6: 12-14.

Hugall AF, Foster R, Lee MSY. 2007. Calibration choice, rate smoothing, and the pattern of tetrapod diversification according to the long nuclear gene RAG-1. *Systematic Biology*. 56(4): 543-563.

- Chen TH, Chang HC, Lue KY. 2009. Unregulated Trade in Turtle Shells for Chinese Traditional Medicine in East and Southeast Asia: The Case of Taiwan. *Chelonian Conservation and Biology*. 8(1): 11-18.
- Cherepanov GO. 2002. Pholidosis of the turtle shell in onto- and phylogenesis. *Zoologicheskii Zhurnal*. 81: 480-488.
- Cherepanov GO. 2005. Turtle shell: morphogenesis and evolution. St Petersburg State University, St. Petersburg. 184 pp.
- Cherepanov GO. 2006. Ontogenesis and evolution of horny parts of the turtle shell. Fossil Turtle Research. *Russian Journal of Herpetology*. 1: 19-33.
- Cherepanov GO. 2014. Patterns of scute development in turtle shell: symmetry and asymmetry. *Paleontological Journal*. 48: 1275-1283.
- Cherepanov GO. 2015. Scute's polymorphism as a source of evolutionary development of the turtle shell. *Paleontological Journal*. 49(14): 1635-1644.
- Cheung SM, Dudgeon D. 2006. Quantifying the Asian turtle crisis : market surveys in southern China, 2000 – 2003. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 16(7): 751-770.
- Chiari Y, Cahais V, Galtier N, Delsuc F. 2012. Phylogenomic analyses support the position of turtles as sister group of birds and crocodiles. *BMC Biology*. 10: 65. doi: 10.1186/1741-7007-10-65.
- Chiari Y, Claude J. 2011. Study of the carapace shape and growth in two Galápagos tortoise lineages. *Journal of Morphology*. 272(3): 379-86.
- Chiari Y, Claude J. Morphometric identification of individuals when there are more shape variables than reference specimens: A case study in Galápagos tortoises. *Comptes Rendus Biologies*. 335(1): 62-68.

Ihlow F, Vamberger M, Flecks M, Hartmann T, Cota M, Makchai S, Meewattana P, Dawson JE, Kheng L, Rödder D, Fritz U. 2016. Integrative taxonomy of Southeast Asian snail-eating turtles (Geoemydidae: *Malayemys*) reveals a new species and mitochondrial introgression. *PLoS ONE*. 11(4): e0153108.

Iverson JB. 1992. *A revised checklist with distribution maps of the turtles of the world*. Privately Printed (Richmond, Indiana), xiii + 363 pp.

Ives IE, Platt SG, Tasirin JS, Hunowu I, Siwu S, Rainwater TR. 2008. Field Surveys, Natural History Observations, and Comments on the Exploitation and Conservation of *Indotestudo forstenii*, *Leucocephalon yuwonoi*, and *Cuora amboinensis* in Sulawesi, Indonesia. *Chelonian Conservation and Biology*. 7(2): 240-248.

Kuchling G. 2006. Endoscopic sex determination in juvenile freshwater turtles, *Erymnochelys madagascariensis*: Morphology of gonads and accessory ducts. *Chelonian Conservation and Biology*. 5(1): 67-73.

Lance VA, Valenzuela N, Hildebrand, VP. 1992. A hormonal method to determine sex of hatchling giant river turtles, *Podocnemis expansa*: application to endangered species. *Journal of Experimental Zoology*. 270:16A.

Laurin M, Reisz RR. 1995. A reevaluation of early amniote phylogeny. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 113(2): 165-223.

Le M, McCord WP. 2008. Phylogenetic relationships and biogeographical history of the genus *Rhinoclemmys* Fitzinger, 1835 and the monophyly of the turtle family Geoemydidae (Testudines: Testudinoidea). *Zoological Journal of the Linnean Society*. 153(4): 751-767.

Le M, Hoang T, Le D. 2004. Trade data and some comments on the distribution of *Mauremys annamensis* (Siebenrock, 1903). *Asiatic Herpetological Research*. 10: 110-113.

- Le M, McCord WP, Iverson JB. 2007. On the paraphyly of the genus *Kachuga* (Testudines: Geoemydidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 45(1): 398-404.
- Lee MSY. 1995. Historical burden in systematics and the interrelationships of “Parareptiles.” *Biological Reviews*. 70(3): 459-547
- Lee MSY. 2001. Molecules, morphology, and the monophyly of diapsid reptiles. *Contributions to Zoology*. 70(1): 1-22.
- Li W, Zhang XC, Zhao J, Shi Y, Zhu XP. 2014b. Complete mitochondrial genome of *Cuora trifasciata* (Chinese three-striped box turtle), and a comparative analysis with other box turtles. *Gene*. 555(2): 169-177.
- Li W, Zhao J, Shi Y, Xiao FF, Zhang XC, Zhu XP. 2014a. The complete mitochondrial genome of the critically endangered Vietnamese three-striped box turtle (Testudines: Geoemydidae). *Mitochondrial DNA*. 26(6): 925-926.
- Literman R, Badenhorst D, Valenzuela N. 2014. qPCRbased molecular sexing by copy number variation in rRNA genes and its utility for sex identification in soft-shell turtles. *Methods in Ecology and Evolution*. 5: 872–880.
- Loehr VJT. 2016. Wide variation in carapacial scute patterns in a natural population of speckled tortoises, *Homopus signatus*. *African Journal of Herpetology*. 65(1): 47-54.
- Lubiana A, Ferreira Júnior PD. 2009. Pivotal temperature and sexual dimorphism of *Podocnemis expansa* hatchlings (Testudines: Podocnemididae) from Bananal Island, Brazil. *Zoologia (Curitiba)*. 26(3): 527-533.
- Lynn WG, Ullrich MC. 1950. Experimental production of shell abnormalities in turtles. *Copeia*. 1950(4): 253–263.
- Lyson TR, Bever GS, Bhullar B-AS, Joyce WG, Gauthier JA. 2010. Transitional fossils and the origin of turtles. *Biology Letters*. 6(6): 830-833.

Lyson TR, Bhullar B-AS, Bever GS, Joyce WG, de Queiroz K, Abzhanov A, Gauthiera JA. Homology of the enigmatic nuchal bone reveals novel reorganization of the shoulder girdle in the evolution of the turtle shell. *Evolution & Development*. 15(5): 317-325.

Lyson TR, Sperling EA, Heimburg AM, Gauthier JA, King BL, Peterson KJ. 2012. MicroRNAs support a turtle + lizard clade. *Biology Letters*. 8(1): 104-107.

Mast RB, Carr JL. 1989. Carapacial scute variation in Kemp's ridley sea turtle (*Lepidochelys kempi*) hatchlings and juveniles. In: *Proceedings of the First International Symposium on Kemp's Ridley Sea Turtle Biology, Conservation and Management* (ed. Caillouet CW, Landry AM), pp. 202-219. Texas: A & M University Sea Grant.

Mccord WP, Iverson JB, Spinks PQ, Shaffer HB .2000. A new genus of Geoemydid turtle from Asia. *Hamadryad*. 25(2): 20–24.

McCord WP, Philippen HD. 1998. A new subspecies of box turtle, *Cuora amboinensis lineata*, from northern Myanmar (Burma), with remarks on the distribution and geographic variation of the species. *Reptile Hobbyist*. 3: 51-58.

McCormack TEM, Dawson JE, Hendrie DB, Ewert MA, Iverson JB, Hatcher RE, Goode JM (2014). *Mauremys annamensis* (Siebenrock 1903) – Vietnamese Pond Turtle, Annam Pond Turtle, Rùa Trung Bộ. In: Rhodin AGJ, Pritchard PCH, van Dijk PP, Saumure RA, Buhlmann KA, Iverson JB, Mittermeier RA, editors. *Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group*. Chelonian Research Monographs 5:081.1-14, doi:10.3854/crm.5.081. annamensis.v1.2014, <http://www.iucn-tftsg.org/cbftt/>.



- McLaughlin CJ, Stayton CT. Convergent Evolution Provides Evidence of Similar Radiations in Shell Shape in the Turtle Families Emydidae and Geoemydidae. *Herpetologica*. 72(2): 120-129.
- Moustakas-Verho JE, Cherepanov GO. 2015. The integumental appendages of the turtle shell: An evo-devo perspective. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*. 324(3): 221-229.
- Moustakas-Verho JE, Zimm R, Cebra-Thomas J et al. 2014. The origin and loss of periodic patterning in the turtle shell. *Development*. 141(15): 3033-3039.
- Murray CM, McMahan CD, Dobie JL, Guyer C. 2014. Cranial variation amongst independent lineages of the alligator snapping turtle (*Macrochelys temminckii*). *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. 22(4): 305-311.
- Myers EM, Tucker JK, Chandler CH. 2007. Experimental analysis of body size and shape during critical life-history events of hatchling slider turtles, *Trachemys scripta elegans*. *Functional Ecology*. 21(6): 1106–1114.
- Myers ME, Janzen JF, Adams CD, Tucker JK. 2006. Quantitative genetics of plastron shape in slider turtles (*Trachemys scripta*). *Evolution*. 60(3): 563-572.
- Otani T. 1995a. A possible hybrid between *Geoemyda japonica* and *Cuora flavomarginata* obtained in captivity. *Akamata*. 11: 22-24.
- Packard GC, Packard MJ. 1988. The physiological ecology of reptilian eggs and embryos. In: Gans C, Huey RB, ed. *Biology of the Reptilia*. Alan R. Liss Inc, New York, pp 524-605.
- Palupčíková K, Somerová B, Protiva T, Rehák I, Velenský P, Hulva P, Gunalen D, Frynta D. 2012. Genetic and shell-shape analyses of *Orlitia borneensis* (Chelonia: Geoemydidae) reveal limited divergence among founders of the European zoo population. *Zootaxa*. (3280): 56-66.

- Parham JF, Simison WB, Kozak KH, Feldman CR, Shi H. 2001. New Chinese turtles: endangered or invalid? A reassessment of two species using mitochondrial DNA, allozyme electrophoresis and known locality specimens. *Animal Conservation*. 4(4): 357-367.
- Parham JF, Stuart BL, Bour R, Fritz U. 2004. Evolutionary distinctiveness of the extinct Yunnan box turtle (*Cuora yunnanensis*) revealed by DNA from an old museum specimen. *Proceedings of the Royal Society of Biology (Supplement)*, Biological Letters, London, 271: 391-394 + Electronic Appendix A, 6 pp.
- Parham JF, Stuart BL, Orlov NL. 2006. *Mauremys annamensis*: Distribution record for Vietnam. *Herpetological Review*. 37(2): 239.
- Praschag P, Holloway R, Georges A, Päckert M, Hundsdoerfer AK, Fritz U. 2009. A new subspecies of *Batagur affinis* (Cantor, 1847), one of the world's most critically endangered chelonians. *Zootaxa*. 2233: 57-68.
- Praschag P, Hundsdoerfer AK, Fritz U. 2007. Phylogeny and taxonomy of endangered South and South-east Asian freshwater turtles elucidated by mtDNA sequence variation (Testudines: Geoemydidae: *Batagur*, *Callagur*, *Hardella*, *Kachuga*, *Pangshura*). *Zoologica Scripta*. 36(5): 429-442.
- Praschag P, Schmidt C, Fritzsche G, Müller A, Gemel R, Fritz U. 2006. *Geoemyda silvatica*, an enigmatic turtle of the Geoemydidae (Reptilia: Testudines), represents a distinct genus. *Organisms, Diversity & Evolution*. 6(2): 151-162.
- Pritchard PCH. 1979. Encyclopedia of turtles. T.F.H. Publications, Inc., Hong Kong.
- Protiva T, Gunalen D, Bauerová A, Palupčíková K, Somerová B, Frýdlová P, Jančúchová – Lásková J, Šimková O, Frynta D, Reháček I. (3) Shell shape and genetic variability of Southeast Asian Box Turtles (*Cuora amboinensis*) from Borneo and Sumatra. Submitted to *Vertebrate Zoology*.

Protiva T, Komárková M, Frynta D, Rehák I. (1) Deformity or evolution in progress? Carapace abnormality in The Indian Eyed Turtle (*Morenia petersi*). Submitted to *Integrative Zoology*.

Protiva T, Velenský P, Somerová B, Frynta D, Rehák I. (2) Is shell-shape variability congruent with deep mitochondrial clades in *Mauremys annamensis*? Submitted to *Turkish Journal of Zoology*.

Rehák I. 2004a. Želvy z Hongkongu po dvou letech. *Gazella*. 31: 39-48.

Rehák I. 2004b. European (EAZA) Studbook Malaysian Giant Pond Turtle *Orlitia borneensis*. *Zoological Garden Prague*. 140 pp.

Rhodin AGJ, van Dijk P, Iverson JB, Shaffer HB. 2010. *Turtles of the World, 2010 Update: Annotated Checklist of Taxonomy, Synonymy, Distribution, and Conservation Status*. *Chelonian Research Monographs*.5.

Rieppel O, DeBraga M. 1996. Turtles as diapsid reptiles. *Nature*. 384: 453-455.

Rivera G, Claude J. 2008. Environmental media and shape asymmetry: a case study on turtle shells. *Biological Journal of the Linnean Society*. 94(3): 483-489.

Rivera G, Styton CT. 2011. Finite Element Modeling of Shell Shape in the Freshwater Turtle *Pseudemys concinna* Reveals a Trade-Off between Mechanical Strength and Hydrodynamic Efficiency. *Journal of Morphology*. 272(10): 1192-1203.

Riyanto A. 2006. Notes on Exploitation, Population Status, Distribution, and Natural History of the Sulawesi Forest Turtle (*Leucocephalon yuwonoi*) in North-Central Sulawesi, Indonesia. *Chelonian Conservation and Biology*. 5(2): 320-323.

Rummler HJ, Fritz U. 1991. Geographische Variabilität der Amboina-Scharnierschildkröte *Cuora amboinensis* (Daudin, 1802), mit Beschreibung einer neuen Unterart, *C. a. kamaroma* subsp. nov. *Salamandra*. 27(1): 17-45.

Samedi AR, Iskandar DT. 2000. Freshwater turtle and tortoise conservation and utilization in Indonesia. In: van Dijk PP, Stuart BL, Rhodin AGJ (Eds). *Asian Turtle*

*Trade: proceedings of a workshop on conservation and trade of freshwater turtles and tortoises in Asia*. Chelonian Research Monographs 2. Chelonian Research Foundation, Lunenburg, Massachusetts, USA, pp 106–111.

Shen XX, Liang D, Wen JZ, Zhang P. 2011. Multiple genome alignments facilitate development of NPCL markers: a case study of tetrapod phylogeny focusing on the position of turtles. *Molecular Biology and Evolution*. 12: 3237-3257.

Shi H, Fong JJ, Parham JF, Pang J, Wang J, Hong M, Zhang YP. 2008. Mitochondrial variation of the “eyed” turtles (*Sacalia*) based on known-locality and trade specimens. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 49: 1025–1029.

Shi H, Parham JF. 2001. Preliminary observations of a large turtle farm in Hainan Province, People’s Republic of China. *Turtle and Tortoise Newsletter*. 3: 4-6.

Schilde M, Barth D, Fritz U. 2004. An *Ocadia sinensis* × *Cyclemys shanensis* hybrid (Testudines: Bataguridae). *Asiatic Herpetological Research*. 10: 120-125.

Schoppe S, Das I. 2011. *Cuora amboinensis* (Riche in Daudin 1801) – Southeast Asian Box Turtle. In: Rhodin AGJ, Pritchard, PCH, van Dijk PP, Saumure RA, Buhlmann KA, Iverson JB, Mittermeier RA (Eds.). Conservation Biology of Freshwater Turtles and Tortoises: A Compilation Project of the IUCN/SSC Tortoise and Freshwater Turtle Specialist Group. Chelonian Research Monographs No. 5, pp. 053.1–053.13, doi:10.3854/crm.5.053.amboinensis.v1.2011, <http://www.iucn-tftsg.org/cbftt/>.

Schoppe S. 2008. Science in CITES: The biology and ecology of the Southeast Asian Box Turtle *Cuora amboinensis* and its local uses and trade in Malaysia. TRAFFIC Southeast Asia, Petaling Jaya, Selangor, Malaysia.

Schoppe S. 2009. Status, trade dynamics and management of the Southeast Asian Box Turtle *Cuora amboinensis* in Indonesia. TRAFFIC Southeast Asia, Petaling Jaya, Selangor, Malaysia.

- Sim EL, Booth DT, Limpus CJ, Guinea ML. 2014b. A Comparison of Hatchling Locomotor Performance and Scute Pattern Variation between Two Rookeries of the Flatback Turtle (*Natator depressus*). *Copeia*. 2: 339-344.
- Sim EL, Booth DT, Limpus CJ. 2014a. Non-modal Scute Patterns, Morphology, and Locomotor Performance of Loggerhead (*Caretta caretta*) and Flatback (*Natator depressus*) Turtle Hatchlings. *Copeia*. 1: 63-69.
- Somerová B, Rehák I, Velenský P, Palupčíková K, Protiva T, Frynta D. 2015. Haplotype variation in founders of the *Mauremys annamensis* population kept in European Zoos. *Acta Herpetologica*. 10: 7-15.
- Sönmez B, Turan C, Özdilek SY. 2011. The effect of relocation on the morphology of Green Turtle, *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758), hatchlings on Samandağ beach, Turkey. *Zoology in the Middle East*. 52(1): 29-38
- Spinks PQ, Shaffer HB. 2006. Conservation phylogenetics of the Asian box turtles (Geoemydidae, *Cuora*): mitochondrial introgression, numts, and inferences from multiple nuclear loci. *Conservation Genetics*. 8(3): 641-657.
- Spinks PQ, Shaffer HB. 2007. Conservation phylogenetics of the Asian box turtles (Geoemydidae, *Cuora*): mitochondrial introgression, numts, and inferences from multiple nuclear loci. *Conservation Genetics*. 8: 641-657.
- Spinks PQ, Thomson RC, Hughes B, Moxley B, Brown R, Diesmos A, Shaffer HB. 2012. Cryptic variation and the tragedy of unrecognized taxa: the case of international trade in the spiny turtle *Heosemys spinosa* (Testudines: Geoemydidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*. 164(4): 811-824.
- Spinks PQ, Thomson RC, Shaffer HB. 2009. A reassessment of *Cuora cyclornata* Blanck, McCord and Le, 2006 (Testudines, Geoemydidae) and a plea for taxonomic stability. *Zootaxa*. 2018: 58-68.

- Spinks PQ, Thomson RC, Zhang Y, Che J, Wu Y, Shaffer HB. 2012. Species boundaries and phylogenetic relationships in the critically endangered Asian box turtle genus *Cuora*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 63: 656-667.
- Spinks QPH, Bradley S, Iverson JB, McCord WP. 2004. Phylogenetic hypotheses for the turtle family Geoemydidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 32: 164–182.
- Stayton CT. 2011. Biomechanics on the half shell: functional performance influences patterns of morphological variation in the emydid turtle carapace. *Zoology*. 114(4): 213-223.
- Stemmler O. 1973. Beschreibung von zwei jungen hybriden Bachschildkröten: *Clemmys caspica rivulata* × *Clemmys caspica caspica*. *Zoologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden*. 32: 309-312.
- Stuart BL, Parham JF. 2004. Molecular phylogeny of the critically endangered Indochinese box turtle (*Cuora galbinifrons*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 31(1): 164-77.
- Stuart BL, Parham JF. 2006. Recent hybrid origin of three rare Chinese turtles. *Conservation Genetics*. 8(1): 169-175.
- Stuart BL. 2004. The harvest and trade of reptiles at U Minh Thuong national park, southern Vietnam. *Traffic Bulletin*. 20(1): 25-34.
- Telemeco RS, Warner DA, Reida MK, Janzen FJ. 2013. Extreme developmental temperatures result in morphological abnormalities in painted turtles (*Chrysemys picta*): a climate change perspective. *Integrative Zoology*. 8(2): 197-208.
- Tiedemann R, Schneider ARR, Havenstein K, Blanck T, Meier E, Raffel M, Zwartepoorte H, Plath M. 2014. New microsatellite markers allow high-resolution taxon delimitation in critically endangered Asian box turtles, genus *Cuora*. *Salamandra*. 50(3): 139-146.

TRAFFIC Southeast Asia. 2001. An Overview of the Trade in live South-east Asian Freshwater Turtles. An Information Paper for the 17th Meeting of the CITES Animals Committee Hanoi, Viet Nam, 30 July to 3 August 2001

TTWG [TURTLE TAXONOMY WORKING GROUP] (Van Dijk PP, Iverson JB, Rhodin AGJ, Shaffer, HB, Bour R). 2014. *Turtles of the World*, 7th Edition: Annotated Checklist of Taxonomy, Synonymy, Distribution with Maps, and Conservation Status. 000.v7. *Chelonian Research Monographs* No. 5, doi:10.3854/crm.5.000.checklist.v7.2014: 329-479.

Valenzuela N, Adams DC, Bowden RM, Gauger AC. 2004. Geometric morphometrics sex estimation for hatchling turtles: A powerful alternative for detecting subtle sexual shape dimorphism. *Copeia*. 4: 735-742.

Vargas-Ramírez M, Carr JL, Fritz U. 2013. Complex phylogeography in *Rhinoclemmys melanosterna*: conflicting mitochondrial and nuclear evidence suggests past hybridization (Testudines: Geoemydidae). *Zootaxa*. 3670(2): 238-254.

Velo-Antón G, Becker CG, Cordero-Rivera A. 2011. Turtle Carapace Anomalies: The Roles of Genetic Diversity and Environment. *PLoS ONE*. 6(4): 1-11.

Voris, H.K. 2000. Maps of Pleistocene Sea Levels in South East Asia: Shorelines, River Systems, Time Durations. *Journal of Biogeography*. 27: 1153-1167.

Werneburg I, Sánchez-Villagra MR. 2009. Timing of organogenesis support basal position of turtles in the amniote tree of life. *BMC Evolutionary Biology*. 82: doi: 10.1186/1471-2148-9-82

Werneburg I, Wilson LAB, Parr WCH, Joyce WG. 2015. Evolution of Neck Vertebral Shape and Neck Retraction at the Transition to Modern Turtles: an Integrated Geometric Morphometric Approach. *Systematic Biology*. 64(2): 187-204.

- Werneburg I. 2015. Neck motion in turtles and its relation to the shape of the temporal skull region. *Comptes Rendus Palevol.* 14: 527-548.
- Wiesner CS, Iben C. 2003. Influence of environmental humidity and dietary protein on pyramidal growth of carapaces in African spurred tortoises (*Geochelone sulcata*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berl.)*. 87: 66-74.
- Wink M, Guicking D, Fritz U. 2001. Molecular evidence for hybrid origin of *Mauremys iversoni* Pritchard et McCord, 1991, and *Mauremys pritchardi* McCord, 1997. *Zoologische Abhandlungen*. 51: 41-49.
- Wyneken J, Epperly SP, Crowder LB, Vaughan J, Esper KB. 2007. Determining sex in posthatchling loggerhead sea turtles using multiple gonadal and accessory duct characteristics. *Herpetologica*. 63(1): 19-30.
- Xia Z-R, Li P-P, Gu H-X, Fong JJ, Zhao EM. 2011. Evaluating Noninvasive Methods of Sex Identification in Green Sea Turtle (*Chelonia mydas*) Hatchlings. *Chelonian Conservation and Biology*. 10(1): 117-123.
- Zangerl R, Johnson RG. 1957. The nature of shield abnormalities in the turtle shell. *Fieldiana, Geology*. 10: 341-362.
- Zangerl R. 1969. The turtle shell. In: Gans C, Bellairs Ad'A, Parsons TS, ed. *Biology of reptilia*, I. Academic Press, London and New York, pp. 311-339.
- Zelditch ML, Swiderski LD, Sheets HD, Fink LW. 2004. *Geometric Morphometrics for Biologist*. Elsevier Academic Press. 443 pp.
- Zhou HX, Jiang Y, Nie LW, Yin HZ, Li HF, Dong XM, Zhao FF, Zhang HH, Pu YG, Huang ZF et al. 2015. The Historical Speciation of *Mauremys* Sensu Lato: Ancestral Area Reconstruction and Interspecific Gene Flow Level Assessment Provide New Insights. *PLoS ONE*. 10: e0144711. doi: 10.1371/journal.pone.0144711



### 3. Publikace

1. **Protiva T**, Komárková M, Frynta D, Reháč I. (1) Deformity or evolution in progress? Carapace abnormality in The Indian Eyed Turtle (*Morenia petersi*). Submitted to *Integrative Zoology*.
2. Somerová B, Reháč I, Velenský P, Palupčíková K, **Protiva T**, Frynta D (2015). Haplotype variation in founders of the *Mauremys annamensis* population kept in European Zoos. *Acta Herpetologica*. 10: 7-15.
3. **Protiva T**, Velenský P, Somerová B, Frynta D, Reháč I. (2) Is shell-shape variability congruent with deep mitochondrial clades in *Mauremys annamensis*? Submitted to Turkish Journal of Zoology.
4. Palupčíková K, Somerová B, **Protiva T**, Reháč I, Velenský P, Hulva P, Gunalen D, Frynta D. 2012. Genetic and shell-shape analyses of *Orlitia borneensis* (Chelonia: Geoemydidae) reveal limited divergence among founders of the European zoo population. *Zootaxa*. (3280): 56-66.
5. Blanck T, **Protiva T**, Zhou T, Li Y, Tiedemann PCR. New subspecies of *Cuora cyclornata* (Blanck, McCord & Le, 2006), *Cuora trifasciata* (Bell, 1825) and *Cuora aurocapitata* (Luo & Zong, 1988). Submitted to *Asian Herpetological Research*.
6. **Protiva T**, Gunalen D, Bauerová A, Palupčíková K, Somerová B, Frýdlová P, Jančúchová – Lásková J, Šimková O, Frynta D, Reháč I. (3) Shell shape and genetic variability of Southeast Asian Box Turtles (*Cuora amboinensis*) from Borneo and Sumatra. Submitted to *Vertebrate Zoology*.

## 4. Závěr

Dosažené výsledky této disertační práce můžeme shrnout do několika bodů:

- Vyloučili jsme vliv vmezeřeného vertebrálního štítu u druhu *Morenia petersi* na celkový tvar krunýře a tím i fitness. Znak je pravděpodobně evolučně zafixovaný a může se jednat o první krok v evoluci nového druhu.
- Geneticky jsme potvrdili existenci mitochondriálních kladů u *Mauremys annamensis* a ověřili jsme rozdílnost těchto skupin také podle tvaru plastronu. Při plánování záchranných chovů v zajetí a repatriaci by se k existenci tohoto rozdělení mělo přihlížet.
- Nenašli jsme žádné genetické ani morfologické rozdíly mezi haplotypovými skupinami u druhu *Orlitia borneensis*. Zástupci tohoto druhu mohou být zapojeni do záchranných akcí bez ohledu na původ.
- Ověřili jsme správnost vymezení druhu *C. cyclornata* a popsali další poddruhy tohoto a blízkých druhů, *C. cyclornata annamitica*, *C. trifasciata luteocephala* a *C. aurocapitata dabieshani*.
- Prokázali jsme rozdíl ve tvaru karapaxu a plastronu u nedospělých jedinců mezi populacemi druhu *C. amboinensis* z Bornea a Sumatry. Genetická analýza odkryla větší rozdíly mezi jednotlivými, v současné době uznávanými, poddruhy a potřebu dalšího výzkumu genetické a morfologické struktury tohoto druhu.